

흰 쥐 치아 재식 후 치수 치유 양상의 조직학적 관찰

고은진¹ · 정한성² · 김의성¹ · 정일영¹ · 이승종^{1*}

연세대학교 치과대학 ¹치과보존학교실, ²구강생물학교실

ABSTRACT

HISTOLOGY OF DENTAL PULP HEALING AFTER TOOTH REPLANTATION IN RATS

Eun-Jin Go¹, Han-Seong Jung², Eui-Seong Kim¹, Il-Young Jung¹, Seung-Jong Lee^{1*}

¹Department of Conservative Dentistry, ²Department of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea

The objective of this study was to observe the histology of dental pulp healing after tooth replantation in rats. The maxillary right first molars of 4-week-old rat were extracted, and then the teeth were repositioned in the original socket. At 3 days after replantation, there was localized inflammatory reaction. But, pulp revascularization and healing had already begun in the root area. At 5 days after replantation, odontoblast-like cells were observed. Tertiary dentin deposition was observed beneath the pulp-dentin border from 1 week after replantation. And tertiary dentin was increased at 2 weeks after replantation. The presence of odontoblast-like cells and the formation of tertiary dentin were continued to 4 weeks after replantation. At 4 weeks after replantation, the deposition of bone-like tissues and cementum-like tissues was observed. This results show that there is a possibility of pulp healing after tooth replantation in rats and the mineralization of tooth can progress. The mineralization of tooth after replantation was initially occurred by the deposition of tertiary dentin, but as time passed, the deposition of bone-like tissues and cementum-like tissues was begun and increased. [J Kor Acad Cons Dent 35(4):273-284, 2010]

Key words: Tertiary dentin, Bone, Dental pulp healing, Tooth replantation, Rat

-Received 2010.5.29., revised 2010.6.23., accepted 2010.6.30.-

I. 서 론

치아의 치수-상아질 복합체(pulp-dentin complex)는 치아에 외부 자극이 가해졌을 때 발생한 손상을 스스로 치유할 수 있는 능력이 있는 조직이다. 예를 들어 치아 마모, 치아 우식, 수복 치료 등의 자극은 치수 조직에 가역적 및 비가역적 손상을 일으키는데,¹⁾ 치수 조직은 이러한 손상에 대하여 치수의 생활력과 기능을 유지하기 위한 반응을 나타낼 수 있다. 그 결과 치수 조직은 치유 과정을 통해 생활력을

회복하게 되며, 특히 손상받은 odontoblast가 회복되면 그 결과 조직의 mineralization이 나타나게 된다.²⁻⁹⁾ 이는, odontoblast의 주된 역할이 전상아질 및 상아질의 기질(collagen, proteoglycans)을 생산하고, 칼슘 이온을 운반하여 전상아질 및 상아질의 석회화를 일으키는 것이기 때문에 나타나는 현상이다.¹⁰⁾

외부 자극에 대한 반응으로 나타나는 치아의 mineralization은 주로 삼차 상아질(tertiary dentin) 형성으로 이루어진다. 삼차 상아질의 특징은 그 구조가 매우 불규칙적이며, 상아세관이 이차 상아질과 연속되지 않는 것이 보통이다. 이러한 특징은 외부로부터 유해한 물질이 상아세관을 통해 치수조직으로 전달되지 않도록 보호하는 작용을 한다.¹¹⁾ 따라서, 삼차 상아질의 형성은 치수 조직의 방어 기전의 하나로 설명할 수 있다.

삼차 상아질은 삼차상아질을 형성하는 세포와 그 형태에

*Corresponding Author: **Seung-Jong Lee**
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University
250 Seongsanno, Seodaemun-Gu, Seoul, 120-752, Korea
Tel: +82-2-2228-3148 Fax: +82-2-313-7575
E-mail: sjlee@yuhs.ac

따라 다시 반응성 상아질(reactionary dentin)과 수복 상아질(reparative dentin)로 구분될 수 있다. 만약, 자극이 odontoblast의 파괴를 일으킬 정도로 크지 않다면, odontoblast는 결국 살아남을 수 있게 된다. 오히려 자극에 의해 이전 상태보다 더 활성화되어 반응성 상아질을 활발하게 형성하게 된다. 따라서 반응성 상아질이 빠른 속도로 생성되고 침착되어 치아의 석회화가 진행된다. 또한, 원래 이차상아질을 형성하고 있었던 odontoblast에 의하여 형성되기 때문에 상아세관은 보통 이차상아질과 연결되어 나타나는 특징을 보인다.¹²⁾ 그러나 만약 자극의 강도가 커서 odontoblast가 살아남지 못하게 되는 경우에는 odontoblast 대신 odontoblast-like cell이 새롭게 분화되어, 이들에 의해 수복 상아질이 형성되게 된다. 수복 상아질은 반응성 상아질과 달리 그 형태가 매우 다양한 것이 특징이다. 상아세관이 규칙적으로 형성되어있기도 하고, 매우 불규칙적인 형태나 상아세관이 없는 형태로도 나타난다. 때로는 상아기질 내에 세포가 함입되어 있기도 하는 등 매우 다양한 양상으로 나타난다.¹¹⁾

이러한 치수의 치유 반응이 치아 재식이나 치아 이식 등과 같이 매우 높은 강도의 충격이 가해졌을 때에도 일어날 수 있음이 보고되고 있다.¹³⁻²²⁾ 치아 재식은 발거된 치아를 원래의 치조골와에 재위치시키는 방법으로, 통법의 근관치료가 실패하고 해부학적인 어려움으로 인하여 정상적인 치근단 수술을 시행하기 어려운 경우나, 안면외상 등의 이유로 치아가 완전 탈구된 경우에 시행하는 술식이다. 한편, 치아 이식은 상실된 치아를 수복하기 위한 방법의 하나로 치과 영역에서 이루어지는 치료 술식이다. 이러한 치아 재식이나 치아 이식은 모두 그 과정 중에 치아의 완전 탈구가 일어나며, 특히 생활치아가 완전 탈구 되었을 때에는 신경과 혈액 공급이 차단되어 치수 조직에 큰 충격이 가해지게 된다. 이로 인하여 치수에는 급성 염증 반응이 나타나며 odontoblast는 파괴적 변화를 보이게 된다. 그러나, 바로 치아를 재식 혹은 이식하면 치근단공을 통하여 치수조직이 재신경화, 재혈관화 및 재생이 되어 치유가 일어날 수 있음이 보고되고 있다. Byers 등²³⁾과 Kvinnsland 등²⁴⁾은 쥐의 치아를 재식한 후에 치수 조직이 재신경화 됨을 보고하였으며, Shimizu 등¹⁹⁾, Ohshima 등¹⁸⁾, Nakakura-Ohshima 등¹⁶⁾, Tsukamoto-Tanaka 등²⁵⁾, Hasegawa 등¹³⁾은 치아 재식 혹은 이식 후에는 치수 조직이 일시적으로 급성 염증을 보이지만, 그 이후에는 재혈관화가 일어나고 치수 조직이 치유됨을 보고하였다. 그리고, Andreasen 등²²⁾은 사람의 치아에서도 완전 탈구된 치아를 재식 하였을 때 치수의 치유가 일어남을 임상적으로 보고하였다.

이렇게 치아 재식이나 치아 이식 후에 치수가 치유되면, 치수 조직의 기능이 재개되어 치아의 경조직이 계속 형성되고, 그 결과 치아의 석회화가 일어난다. 그리고, 치아 재식

이나 치아 이식 후에 형성되는 경조직은 조직학적으로 삼차 상아질 또는 골조직으로 구성되어 있다고 보고되었다.^{14,16-21,25)}

이 중 삼차 상아질은 반응성 상아질 보다는 주로 수복 상아질의 형태로 나타난다. 수복 상아질이 형성되는 기전은 다음과 같이 설명된다. 손상을 받은 odontoblast가 생존하지 못하게 되면, 치수의 간엽세포들로부터 odontoblast-like cell이 새롭게 분화되고, 이들에 의해 수복 상아질이 형성된다는 것이다.¹¹⁾ 한편, 골 조직이 형성되는 기전에 대하여는 두 가지 가능성이 있다.¹⁹⁾ 골 조직을 만드는 osteoblast가 치주 세포에서 유래되었을 가능성과 치수 간엽세포에서 유래되었을 가능성이다.^{17,25)} 이렇게 치아의 석회화가 계속 일어날 수 있다는 것은 임상적으로 의미가 있다. 이것은 미성숙영구치에서 치근의 발육이 계속 진행될 수 있고, 상아질에 석회화 조직이 침착되어 남아있는 치근이 강화될 수 있다는 의미이기 때문이다.²⁴⁾

최근, 미성숙 영구치아의 근관치료시의 경향은 치근의 두께 및 길이 성장이 계속적으로 일어날 수 있도록 치근의 발육을 유도하는 방향으로 전환되고 있다.²⁶⁾ 단순히 치근단공을 폐쇄하는 개념의 apexification보다는 생활력이 있는 치수조직을 남겨두어 계속적으로 치근 발육이 일어나도록 유도하는 apexogenesis가 치아의 장기적인 예후로 보았을 때 더 유리할 것이다. 또한, 생활력을 상실한 괴사치수를 가진 치아의 경우도 재혈관화를 통하여 치수조직이 재생되어 치근 발육 및 계속적인 석회화 조직 침착이 이루어질 수 있다고 보고되고 있다.²⁷⁻³¹⁾ 그러나, 각각의 술식 후에 치수가 치유되는 양상이나, 생성되는 석회화 조직이 조직학적으로 어떻게 구성되어있는지에 대한 연구는 아직 부족하다.

본 연구에서는 흰 쥐(rat)의 상악 우측 제1대구치를 이용하여 미성숙 단계의 치아를 발치 후 즉시 재식한 뒤 나타나는 치수의 치유 양상을 조직학적으로 관찰하고자 하였다.

Ⅱ. 실험 재료 및 방법

1. 실험 동물의 전 처치 및 치아 재식

본 실험에서는 생후 4주된 체중 100 mg 내외의 암컷 Sprague-Dawley 계 흰쥐 25마리를 이용하였다. 마취는 Tiletamine (Zoletil50, Virbac, Carros, France) 1 cc를 이용하여 복강내 주사하였다. 마취가 유도된 후 날카로운 탐침으로 상악 우측 제1대구치의 peritomy를 시행하였다. 그 후 조직 검자를 이용하여 치관을 잡고 최소한의 외상을 가하면서 상악 우측 제1대구치를 발거하였다. 발거 후 치아를 원래의 치조골와 내로 위치시켰다. 발거치의 구강외 시간은 5초 이내가 되도록 조절하였다. 치아 재식 후 위치 유지를 위한 특별한 고정방법은 사용하지 않았으며 쥐에게는 1주일간 항생제(Amoxacillin 0.5 g/100 g)가 든 사료를

공급하였다. 단, 3일 후, 5일 후에 희생하는 실험군에는 희생하는 날까지 항생제가 든 사료를 공급하였다.

2. 실험 동물의 희생 및 표본 제작

치아 재식을 시행한 쥐는 조직학적 관찰을 위해 순차적으로 희생하였다. 각 실험군은 치아 재식 시행한 3일, 5일, 1주, 2주, 4주 후 희생하였다. 각각 5마리씩 5개의 실험군을 설정하였고, 5일 후 군은 한 마리가 재식 후 사망하여 4마리로 설정하였으며, 4주 후 군은 6마리로 설정하였다. 각 군에서 한 마리씩 상악 좌측 제1대구치를 대조군으로 설정하였다.

희생 시 Tiletamine (Zoletil50, Virbac, Carros, France) 1 cc로 복강내 주사하였다. 마취가 유도된 후에는 가슴을 절개하여 심장을 노출시킨 후 좌심실에 23 G 주사기를 삽입시키고 동물의 피를 흘려버린 뒤 4% paraformaldehyde (0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)로 심장을 통해 관류 고정하였다. 그 후 en bloc으로 상악골을 적출하였다. 적출된 상악골은 2일 이상 4% paraformaldehyde (0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)에 담가 고정한 후 5% nitric acid에서 5일간 탈회하였다. 탈회 후 상악골을 절단하였다. 실험군은 우측 제1대구치와 제2대구치를 중심으로 절단하였고, 대조군은 좌측 제1대구치를 중심으로 절단하였다. 그 후 절단편을 파라핀에 포매하였다. Microtome을 이용하여 시상면 방향으로 4 μ m 두께로 절단한 후 슬라이드를 제작하였다. 제작한 슬라이드는 hematoxylin과 eosin으로 염색을 시행하였다. 염색을 시행한 후 조직 소견을 광학현미경 하에서 관찰하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 대조군

3일, 5일, 1주, 2주, 4주 후의 모든 대조군은 dentinogenesis 과정 중의 치수 조직 소견을 보였다. 규칙적인 상아세관 구조를 보이는 상아질 및 전상아질 층이 관찰되었고, 그 하방의 치수-상아질 경계 부위에서는 상아기질을 분비하는 odontoblast layer가 관찰되었다. 고배율에서 관찰하였을 때에는 odontoblast의 돌기가 전상아질 층으로 연장되어 있었다. 치수 중심부위에는 섬유모세포 및 혈관 등이 존재하고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Figure 1).

2. 재식 후 3일

치아 재식을 시행한 후 3일째에는 치수 치유가 진행되고 있는 소견이 관찰되었다.

한 개의 표본에서만 치수 전반에 걸쳐 급성 염증 소견이 나타났으며, 나머지 표본에서는 치관부위에 국한된 국소적 염증 소견이 존재하였다. 염증 부위에는 PMNs (polymorphonuclear leukocytes) 및 적혈구 등의 세포가 관찰되었다(Figure 2-A, B).

반면 치수강저 부위와 치근 부위의 치수에는 치관부위보다 염증이 미미하였으며, 침착된 PMNs의 수가 비교적 적었다. 또한 혈관이 분포하고 있어 재혈관화가 시작되었음을 관찰할 수 있었다(Figure 2-C). 전반적으로 치수-상아질 경계의 odontoblast cell layer는 퇴축되어있거나 소실되어 있는 상태였다.

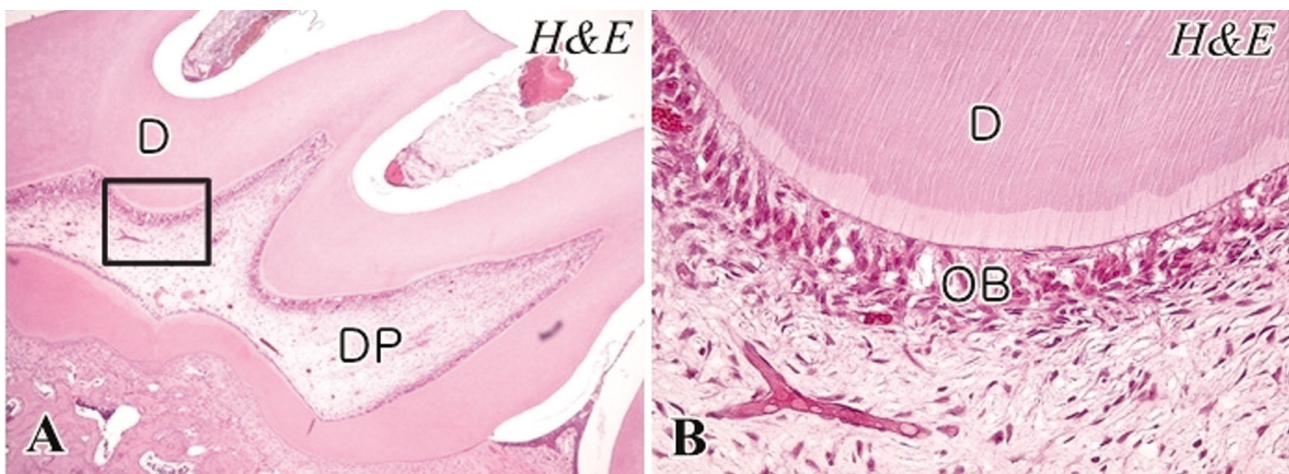


Figure 1. Control tooth. A: coronal zone (magnification, $\times 50$). B: Higher magnification of boxed area in A. It presents normal dentinogenesis process. Odontoblasts are arranged along the pulp-dentin border. Beneath the odontoblast layer, regular tubular dentin is observed (magnification, $\times 400$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblasts.

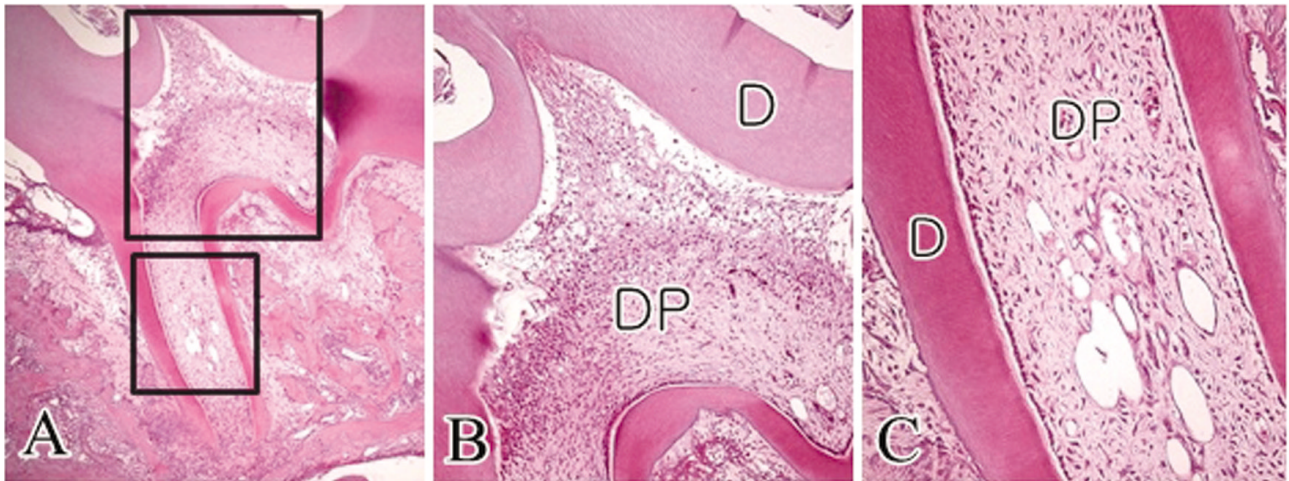


Figure 2. 3 days after replantation. A: There is localized inflammation in the coronal pulp (magnification, $\times 50$). B: Higher magnification of upper boxed area in A. Neutrophils and red blood cells are observed in the pulp horn area (magnification, $\times 100$). C: Higher magnification of lower boxed area in A. Blood supply is recovered in the root pulp (magnification, $\times 200$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp.

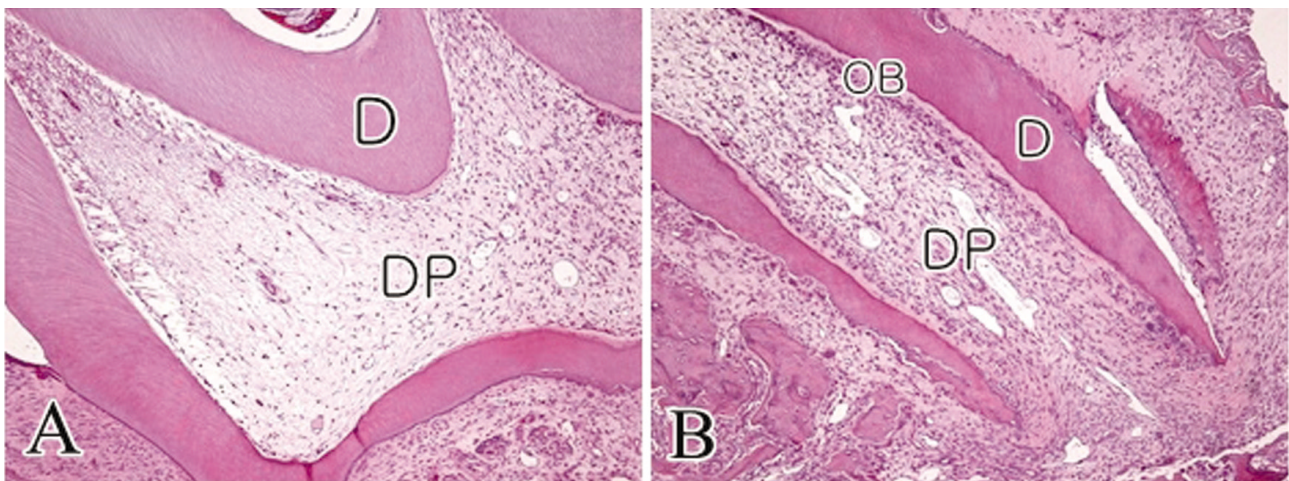


Figure 3. 5 days after replantation. A: Coronal zone. Localized inflammation still remains including neutrophils and fibrin networks in the pulp horn area (magnification, $\times 100$). B: Root zone. Formation of odontoblast-like cell layer begins at the pulp-dentin border (magnification, $\times 100$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblast-like cells.

3. 재식 후 5일

치아 재식 후 5일째는 치수의 국소적인 염증은 여전히 존재하였지만 3일째 보다 치수의 재혈관화 및 재생이 더 진행된 소견이었다. 심한 급성 염증 반응은 한 개의 표본에서만 관찰되었으며, 나머지에서는 3일째 소견과 비슷하게 모두 치관 부위에만 국한된 경미한 염증이 나타났다. PMNs 등

염증세포의 수는 보다 적게 관찰되었다. 혈관의 분포는 치근과 치수강저 뿐 아니라 치관 부위에서도 나타나 재혈관화가 더 진행되고 있는 소견이었다(Figure 3).

5일째부터 odontoblast-like cell이 관찰되기 시작하였다. Odontoblast-like cell의 배열은 주로 치근의 치수-상아질 경계에서 나타났다(Figure 3-B).

4. 재식 후 1주일

1주일째에는 치수의 치유가 진행 여부가 보다 명확하게 나타났다. 5개 중 2개의 표본에서 국소적인 염증이 없이 완전히 치수의 생활력이 회복된 소견을 관찰할 수 있었다. 1개의 표본에서만 전반적으로 심한 염증 반응이 나타났으며, 나머지 2개의 표본에서는 치관 부위에 국한된 경미한 염증이 있었다. 염증이 있는 부위의 치수조직에서는 odontoblast-like cell layer의 형성이 관찰되지 않았으며, 삼차 상아질 형성도 관찰되지 않았다.

치수의 염증이 없는 부위에서는 odontoblast-like cell layer가 형성되어 있었으며, 치수-상아질 경계 상방으로 약

간의 삼차 상아질 형성이 시작되고 있었다. 그리고, 치수 전반에 걸쳐 보다 풍부한 혈관들이 관찰되었다(Figure 4).

이 시기부터 이전 시기에서는 나타나지 않았던 치근단공 부위의 석회화를 관찰할 수 있었다. 치근의 치근단공 부위에 석회화 조직이 침착되어 bridge를 형성하고 있었으며, 그 석회화 기질은 세포성 백악질과 같이 내부에 다수의 세포들이 함입되어 있었다(Figure 4-C).

5. 재식 후 2주일

재식 후 2주일째에는 심한 염증을 보이는 1개의 표본을 제외하고, 다른 4개의 표본에서는 모두 완전히 치수 조직이

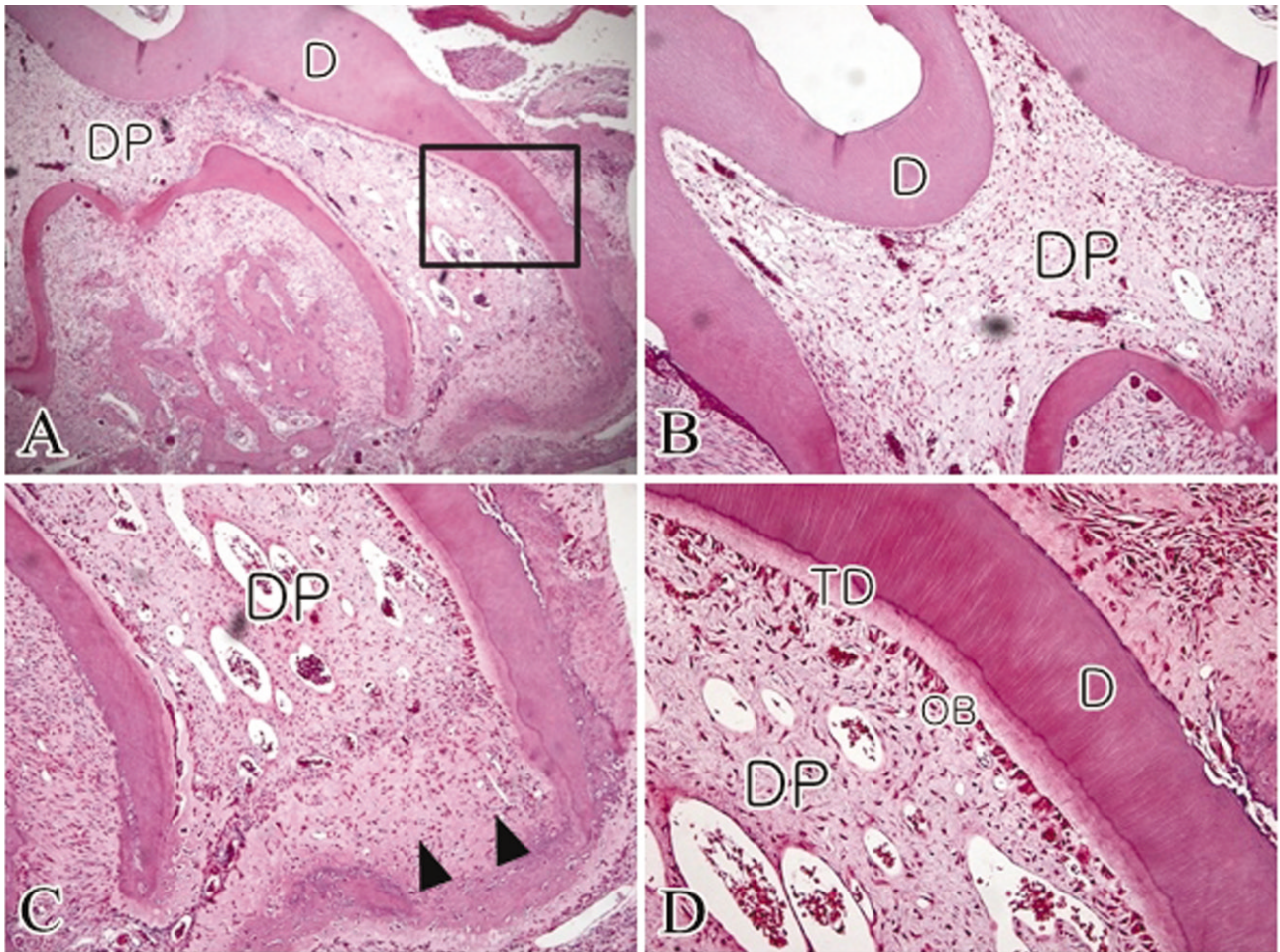


Figure 4. 1 week after replantation. A: Inflammatory lesion disappeared in all of the pulp (magnification, $\times 400$). B: Blood supply is recovered to the coronal pulp. No odontoblast layer formation was formed at the pulp horn area (magnification, $\times 100$). C: At root apex area, there is formation of mineralized region which is similar to the cellular cementum tissues (arrows) (magnification, $\times 100$). D: Higher magnification of boxed area in A. Under the pulp-dentin border, there is a layer of odontoblast-like cells. Some tertiary dentin is deposited beneath the odontoblast-like cells layer (magnification, $\times 200$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblast-like cells; TD, tertiary dentin.

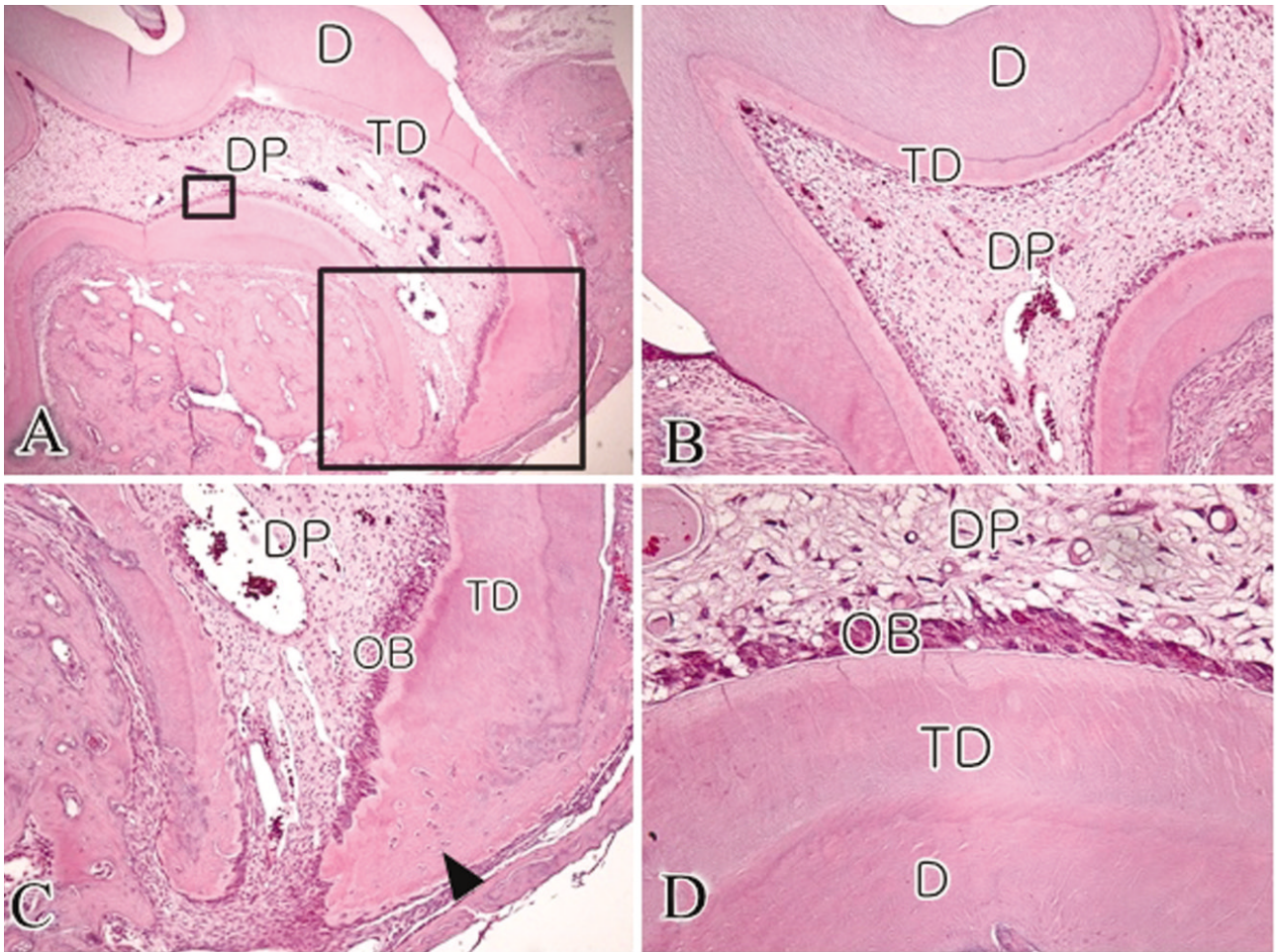


Figure 5. 2 weeks after replantation. A: Tertiary dentin deposition is clear with increased thickness beneath the preexisting dentin (magnification, $\times 50$). B: Coronal zone. Formation of odontoblast-like cells layer is discovered beneath all coronal pulp-dentin border (magnification, $\times 100$). C: Higher magnification of right boxed area in A. At root apex area, there is increased formation of mineralized tissue. It is mixed with tertiary dentins and cementum-like tissues (arrow) (magnification, $\times 100$). D: Higher magnification of left boxed area in A. Beneath the pulp-dentin border, there is a layer of odontoblast-like cells. Increased tertiary dentin deposition is discovered (magnification, $\times 400$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblast-like cells; TD, tertiary dentin.

치식된 소견이었다. odontoblast-like cell들이 치수 전반에 걸쳐 치수-상아질 경계에서 나열되어 있었으며, 그 상방으로 두꺼운 삼차 상아질 층이 형성되었다. 삼차 상아질은 상아세관이 규칙적 혹은 불규칙적으로 나타나는 다양한 형태였고, 기존의 이차 상아질과는 뚜렷한 경계로 구분이 되었다. 그리고, 형성된 삼차 상아질 대부분에서 세포의 함입은 관찰되지 않았다(Figure 5).

재식 후 1주일째부터 나타난 치근단공 부위의 석회화는 2주째에 더욱 진행된 소견이었다. 석회화 기질은 삼차 상아질과 세포성 cementum-like 조직이 뚜렷한 경계없이 혼합되어 있는 양상이었다(Figure 5-C).

심한 염증 반응을 보이는 1개의 표본에서는 odontoblast layer는 나타나지 않았으며, 상아질의 두께 증가도 나타나지 않았으며, 치근부의 상아질은 외흡수가 상당히 진행된 상태였다.

6. 재식 후 4주일

재식 후 4주일째에는 6개 중 1개의 표본에서만 심한 염증이 나타났다. 나머지 5개의 표본에서는 치수의 치유와 치아의 석회화가 2주째보다 훨씬 진행된 소견이 관찰되었다. 삼차 상아질층은 매우 두꺼운 두께로 형성되어 있었으며,

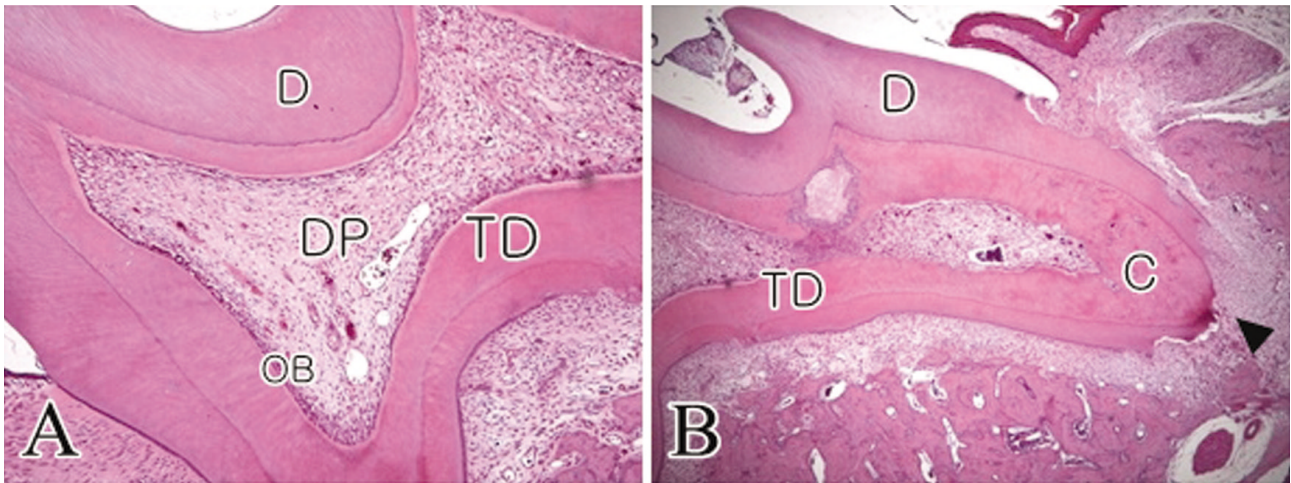


Figure 6. 4 weeks after replantation. A: Tertiary dentin thickness is increased than that of 2 week after replantation. And pulp space is more narrowed (magnification, $\times 50$). B: Mixed form of tertiary dentin and cellular cementum-like tissues is observed under the external root resorption area (arrow) (magnification, $\times 50$). Abbreviations: D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblast-like cells; TD, tertiary dentin.

이로 인해 그 하방의 치수강은 협소해진 상태였다. 또한 삼차 상아질층 하방의 치수-상아질 경계에는 odontoblast-like cell layer가 여전히 관찰되었다.

이 시기에는 특징적으로 이전까지 관찰되지 않았던 bone-like tissue들이 나타났다. 치유 소견이 관찰되는 5개 표본 중 2개 만이 삼차 상아질로만 석회화된 소견이었고 (Figure 6), 2개에서는 bone-like tissue와 삼차 상아질이 같이 나타났고 (Figure 7-A, B, C), 1개에서는 bone-like tissue만으로 석회화된 소견이 관찰되었다 (Figure 7-D). 삼차 상아질과 bone-like tissue가 같이 나타난 경우, bone-like tissue는 치수 중심부에서 나타나거나 혹은 삼차 상아질과 혼합되어 있는 형태로 나타나 나타났다 (Figure 7-A, B). Bone-like tissue는 특징적으로 조직 내에 골모세포와 Haversian canal들이 존재하는 것으로 구분할 수 있었다. 그리고 그 주변으로 osteoblast들이 분포하고 있었으나, odontoblast-like cell들은 관찰되지 않았다 (Figure 7-C).

또한, cementum-like tissue들도 국소적으로 관찰되었다. 이들은 주로 이전까지 주로 치근단공 부위에서 관찰할 수 있었으나, 4주째부터는 치근 상방부위에서도 나타났다. 치근 상방부에서 관찰되는 경우는 주로 치근 외흡수가 진행되어 치근 상아질 층이 거의 소실된 경우였다 (Figure 6-B, Figure 7-B).

IV. 고 찰

치아의 재식 후에 치수 조직의 치유를 평가하기 위하여 본 실험에서는 쥐(rat)를 이용하였다. 치아 재식 실험에 적절

한 동물실험 모델을 선택하기 위하여 다음과 같은 조건을 고려해야 한다. 우선, 치아의 발치와 재식이 용이해야 하고, 실험 결과가 일관적이고 재현성이 있어야 하며, 충분한 개체수를 이용할 수 있어야 한다. 쥐는 개체간의 유전적 일관성이 우수하여 비교적 일관성 있는 결과를 보인다. 또한 사육이 용이하며 비용이 비교적 적게 든다. 또한, 손상 받은 조직의 치유속도가 빨라 전체 치유 과정을 단기간에 관찰할 수 있다는 장점이 있다. 쥐의 종류로는 rat과 mouse가 있는데, Rat의 상악 제1대구치는 치근이 5개이기 때문에 발치시 치근 파절의 위험성이 높은 반면, mouse의 상악 제1대구치는 치근이 3개여서 발치가 더 용이한 점이 있다. 그러나 개체 및 치아의 크기가 rat보다 훨씬 작기 때문에 발치 및 재식을 기술적으로 통제하기 어려운 점이 존재하여 본 실험에서는 rat을 실험동물로 선택하였다.³²⁾

이번 실험에서 시행한 치아 재식은 생활치를 완전 탈구시킨 후 원래의 치조골로 채워치 시키는 술식이다. 치아가 탈구될 때에는 일시적으로 치근단 부위의 신경과 혈류 공급이 차단되게 된다. 이로 인하여 치수에는 급성 염증 반응이 나타나게 되고, odontoblast는 파괴적 변화를 보이게 된다. 그러나, 치수-상아질 복합체는 다른 결합 조직과는 달리 방어와 치유의 기능을 할 수 있는 조직으로서 이러한 손상에 대하여 치유 반응을 나타낼 수 있다.^{11,33)} 이러한 방어와 치유 기전을 통하여 치수는 새로운 석회화 조직을 생성하게 된다. 이러한 작용은 치수조직 내에 남아있던 odontoblast에 의해서도 일어날 수 있지만, odontoblast가 생존하지 못한 경우, odontoblast-like cell이 분화하여 원래의 odontoblast의 기능을 대신하기도 한다고 하였다.¹¹⁾ 본 실험의

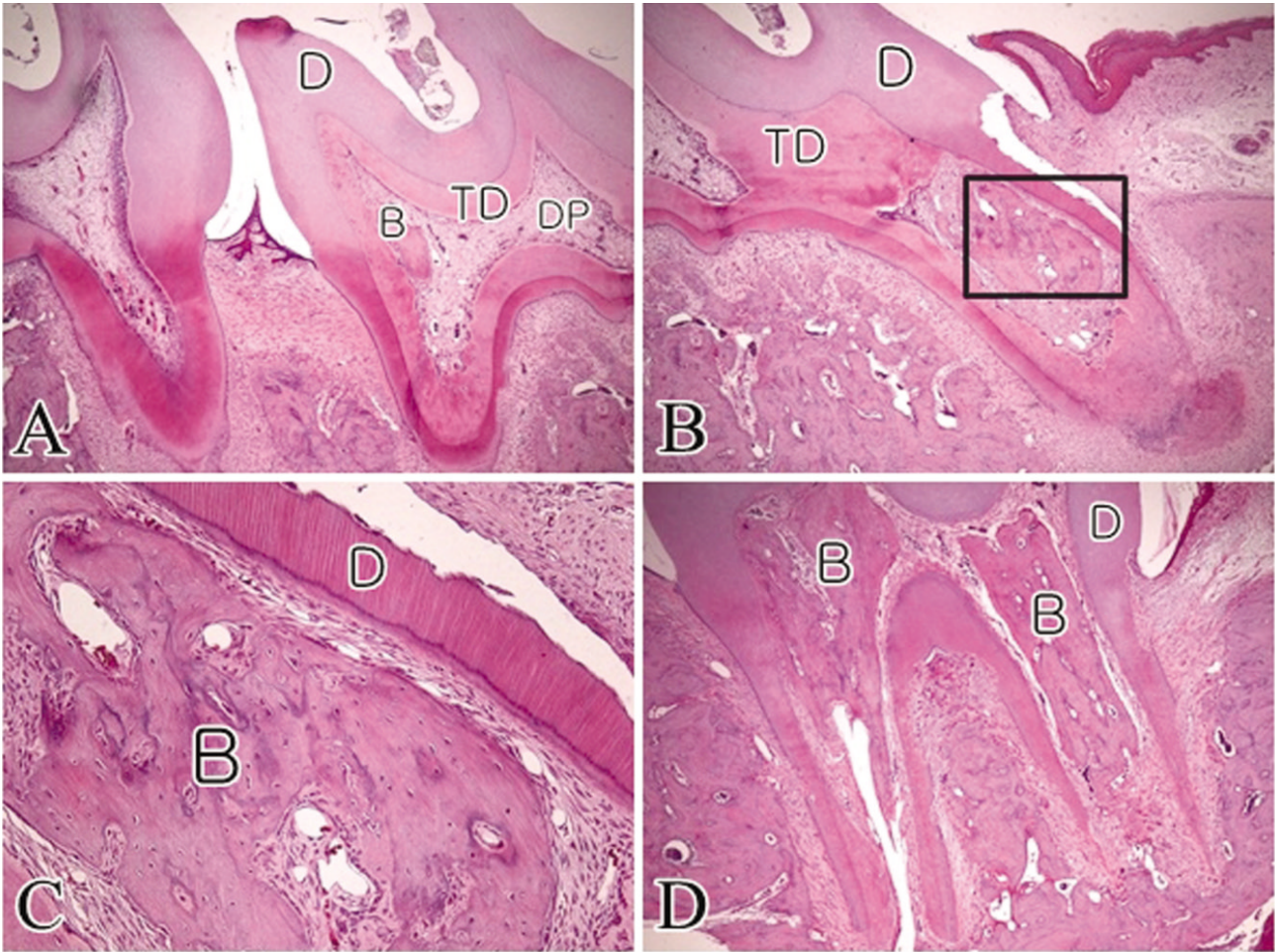


Figure 7. 4 weeks after replantation. A, B: Both tertiary dentin and bone-like tissues are formed. A: Bone-like tissues are mixed with tertiary dentin. B: Bone-like tissues occupy the pulp space without tertiary dentin. (magnification, $\times 50$). C: Higher magnification of boxed area in B. In the bone-like tissues matrix, there are Haversian canals and osteoblast-like cells (magnification, $\times 200$). D: As a result of pulp healing, there is formation of bone-like tissue only without tertiary dentin (magnification, $\times 50$). Abbreviations: B, bone-like tissues; C, cementum-like tissues; D, dentin; DP, dental pulp; OB, odontoblast-like cells; TD, tertiary dentin.

결과로 치아 재식 후에도 점차적으로 치수 조직이 재혈관화 및 재생되어 치유가 일어날 수 있음을 확인하였다. 그리고, 치유가 진행되면서 파괴되었던 odontoblast를 대체할 수 있는 odontoblast-like cell이 나타나고, 그 후 점차적으로 치아의 석회화가 일어남을 확인할 수 있었다.

치아 재식이나 치아 이식 후 일어나는 치수의 치유 반응에 대하여, 이전 연구에서는 삼차 상아질이 형성되거나, bone-like tissue가 형성된다고 보고하였다. 때로는 이 두 가지 조직이 동시에 나타나기도 한다고 하였다.^{14,16-21,25)} Shimizu 등¹⁹⁾은 쥐 치아 재식 후 4주째에 25%에서 삼차상아질 형성이 나타났고, 50%에서는 bone-like tissue 형성 및 25%에서는 이 두 가지가 혼합된 양상인 dentin-bone mixed

tissue 형성이 나타났다고 하였다. Tsukamoto-Tanaka 등²⁵⁾은 20%의 삼차 상아질 형성, 60%의 bone-like tissue 형성 및 20%의 dentin-bone mixed tissue 형성이 나타났다고 보고하였다. 이를 종합하면 이전 실험에서는 치아의 석회화가 주로 bone-like tissue 형성으로 일어났음을 알 수 있다. 그러나, 본 실험에서는 치아 재식 후 4주째 결과를 관찰하였을 때, 2개의 표본에서는 tertiary dentin으로 (40%), 다른 2개의 표본에서 tertiary dentin과 bone-like tissue이 동시에 혼재되어 형성되었으며(40%), 나머지 1개의 표본에서는 모두 bone-like tissue로만 치유되었음을 관찰하였다(20%). 이는 이전 실험에서의 결과와는 달리 삼차 상아질 형성과 dentin-bone mixed tissue 형성이

나타난 비율이 bone-like tissue 형성된 비율보다 높았음을 의미한다. 이와 같은 결과의 원인을 생각해 보면, 본 실험에서는 발치 후 재식 시까지의 시간을 5초 이내로 최소화했기 때문에 사료된다. Ogawa 등¹⁷⁾은 발치 후 재식까지 걸리는 시간과 치수치유 결과에 유의한 연관성이 존재한다고 하였다. 즉, 재식 시간이 연장될수록 삼차 상아질보다는 dentin-bone mixed tissue, bone-like tissue로 치유되거나, 염증반응이 나타날 가능성이 높다고 하였다. 따라서, 본 실험에서는 발치 후 치아의 구강 외 시간을 최소화하였기 때문에 삼차 상아질 형성이 높은 비율로 나타났다고 사료된다.

Odontoblast는 치수 조직에서 가장 분화도가 높은 세포이며, neural crest로부터 기원한다. Odontoblast의 주된 역할은 전상아질 및 상아질의 기질(collagen, proteoglycans)을 생산하는 것이며 또한 칼슘 이온을 운반하여 전상아질 및 상아질의 mineralization을 진행시키는 역할을 한다.¹⁰⁾ 이렇게 odontoblast에 의하여 생성되는 상아질은 다시 일차 상아질, 이차 상아질, 삼차 상아질로 분류된다. 이러한 분류는 상아질을 분비하는 세포의 종류, 상아질이 생성되는 시기와 환경에 의해 이루어진다. 이 중 일차 상아질과 이차 상아질을 생성하는 세포는 odontoblast이며, 같은 세포에 의해 형성되기 때문에 일차 상아질과 이차 상아질의 상아세관은 서로 연속되어있는 양상으로 나타난다. 다만 일차 상아질은 치아 맹출 전까지 형성되는 조직이며, 이차 상아질은 치아가 맹출한 후에 기능을 시작하면서부터 생성된다는 차이점이 존재한다. 그리고, 매우 느린 속도로 일생에 걸쳐서 천천히 형성되는 특징이 있다. 반면, 삼차 상아질은 치아에 충격이 가해졌을 때 이에 대한 반응으로 생성되는 조직이다. 즉, 치아에 자극이 가해지면, odontoblast가 비정상적으로 활성화되거나, odontoblast-like cell 출현이 유도되며, 매우 빠른 속도로 삼차상아질이 형성된다.^{11,34)} 본 실험에서는 치아 재식 후 점차적으로 odontoblast-like cell이 나타났고, 그 후 삼차상아질이 형성됨을 관찰할 수 있었다. 치아 재식 후 5일째부터 odontoblast-like cell 출현을 관찰하였고, 2주째부터 삼차 상아질이 뚜렷하게 침착되었음을 확인하였다. 그리고 치아 재식 후 4주째에는 두꺼운 삼차 상아질 층이 형성되어 치수강이 급격히 좁아졌음을 관찰하였다. 특히, 대조군과 비교하였을 때, 상아질 층의 두께가 확연히 두터움을 관찰할 수 있었다. 이로써, odontoblast-like cell이 빠른 속도로 삼차 상아질을 생성하였음을 확인하였다. 그리고, 치수-상아질 경계부위에 나열되어있는 odontoblast-like cell을 5일째부터 4주째까지 계속적으로 관찰할 수 있었다. 이것은 삼차상아질 생성이 4주째까지도 계속적으로 일어난다는 것을 의미하며, 삼차상아질 생성이 언제까지 지속되는지에 대하여는 더 장기적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Odontoblast-like cell의 기원에 대하여는 논란의 여지가 있으나, 치수에 존재하는 미분화된 간엽 세포들이 분화하여 생성되는 것이라는 견해가 우세하다. 치수의 미분화된 간엽 세포는 cell-rich zone과 pulp core에 위치하며, 주로 혈관 주위에서 발견된다. 이 세포들은 자극을 받으면 분화하여 fibroblast나 odontoblast로 분화하게 된다.¹¹⁾ Gronthos 등³⁵⁾과 Batouli 등³⁶⁾은 사람의 DPSCs (Dental pulp stem cells)을 쥐에 이식하였을 때 상아질 표면에 odontoblast가 나열되고 삼차 상아질이 형성되었음을 보고하였다. 이는 odontoblast-like cell의 기원이 치수 내에 존재함을 직접적으로 밝혀주고 있는 부분이다. 이러한 미분화된 간엽 세포의 수는 나이가 증가함에 따라 감소하며, 따라서 연령이 높아질수록 치수 치유의 가능성이 낮아지게 되는 원인 중 하나가 될 수 있다.^{11,34)} 또한, 미성숙 치아일 경우 치근단공이 성숙 치아에 비하여 매우 넓기 때문에 치근단공을 통하여 재혈관화가 일어날 가능성이 높다.³⁷⁾ 본 실험에서는 치아 재식 후 치수의 치유가 비교적 높은 비율로 일어났다. 모든 실험군에서 각각 염증소견이 관찰된 1마리를 제외하고 모두 치수의 치유가 일어났다. 이는 이번 실험에서 낮은 연령(4주령)의 쥐를 이용하였고, 또한 미성숙 제1대구치를 이용하였기 때문에 사료된다.

치수의 치유 시기에 대하여는 본 실험의 결과와 이전 연구의 결과가 비슷하였다. 이전 연구에서는 Rat의 치아를 재식하였을 때 5일 후부터 odontoblast-like cell의 출현이 시작되었으며, 삼차 상아질의 형성은 1-2주일, bone-like tissue의 형성은 3-4주에 나타났다.^{18,19)} 본 실험에서도 odontoblast-like cell은 5일 후부터 나타났으며, 삼차 상아질의 형성은 2주 후부터 뚜렷하게 관찰되었다. 또한 bone-like tissue의 형성은 4주후부터 관찰이 되었다. 또한, 치유는 치근단 부위와 치수강 부위에서 먼저 일어나는 경향이 관찰되었는데, 이는 rat의 상악 제1대구치의 치근이개부에 존재하는 medullary tube를 통하여도 재혈관화가 일어날 수 있기 때문으로 생각된다. 치수강 부위에 존재하는 Medullary tube는 치아의 치수 조직과 치주 조직이 연결되는 또 하나의 통로로써, 치아 재식 시 이곳을 통하여도 재혈관화가 일어날 수 있다. 그렇기 때문에 치수강 부위의 치수 치유 속도가 빠르게 나타날 수 있었을 것이다.¹⁹⁾

이번 실험에서는 cementum-like tissue의 형성도 나타났다. 이는 특히 치근 외흡수로 상아질층이 거의 흡수된 곳, 그리고 치주조직과 직접 연결되는 치근단부위에서 나타났다. Cementum-like tissue의 존재는 치유 과정 중 치주 조직이 개입이 되어 백악질 형성 과정이 진행되었다는 것을 의미한다. 치아 재식 시에는 치수 조직과 마찬가지로 치주 조직에도 강한 손상이 가해지게 된다. 따라서, 이에 대한 보상반응으로 cementogenesis가 진행될 수 있다. 또한, 상아질의 흡수가 일어난 곳에서는 근관내로 cementoblast-like

cell이 유입되어 상아 기질과 혼합된 백악기질을 형성하게 된다. 그 이후 hydroxyapatite 결정이 침착되면 상아질과 백악질이 혼합체를 형성하는 반응이 진행된다. 이러한 과정을 통하여 intracanal cementum이 형성될 수 있다.³⁸⁾

최근, 생활 치수를 가진 치아에서만 아니라, 생활력이 없는 괴사치수를 가진 미성숙 영구치아를 치료함에 있어서도 치수 재생 개념의 술식이 시도되고 있다.²⁶⁾ 즉, 괴사 치수를 가진 치아도 재혈관화를 통하여 치수 조직이 재생될 수 있고, 그 결과 석회화 조직이 침착되어 치근의 발육이 진행될 수 있다는 것이다. 그러나, 이 경우 재혈관화된 근관 내부가 실제로 어떤 과정으로 치유되고 있는지, 그리고 석회화가 일어난 부분이 조직학적으로 어떻게 구성되어 있는지에 대한 연구는 아직 부족하다. 이에 Wang 등³⁹⁾은 치근단치주염을 가진 미성숙치아에서 치수를 제거하고 빈 근관내로 revascularization을 유도한 후 그 치유 양상을 조직학적으로 관찰하였다. 그 결과 근관 내에 약간의 생활력 있는 치수 조직이 남아있는 부분에서는 odontoblast layer가 형성되었지만, 대부분은 근관 내로 치주 세포가 유입되어 intracanal-cementum, bone-like tissue, PDL이 형성되었음을 관찰하였다. 이는 근관 내의 치수 조직이 재생되지 못한 경우, 치주 조직이 근관 내로 유입되어 치유가 일어날 수도 있다는 것을 의미한다.^{40,41)} 이번 실험에서는 치아 재식을 시행한 후 대부분의 치아에서 치수 생활력이 회복되었기에 치주 조직이 아닌 치수 조직에 의하여 치유가 진행될 수 있었을 것으로 사료된다. 그 결과, 초기에는 삼차상아질 침착에 의해서 치아의 석회화가 진행됨을 관찰하였으나, 시간이 경과하면서 점차 bone-like tissue 또는 cementum-like tissue가 차지하는 비율이 증가하는 것을 관찰하였다. 이러한 결과는 치수강 내에 생활력이 있는 치수가 존재할 때, 치수 치유 및 치아 석회화가 어떤 양상으로 나타나는지에 대한 정보를 제공해 줄 수 있을 것으로 사료된다. 다만, 치아 재식 후 4주째에 bone-like tissue와 cementum-like tissue가 나타난 것으로 보아 치아 석회화가 장기적으로 진행되는 양상에 대한 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

References

- Jang HT, Lee HI, Lee KW, Lee SJ. Temperature changes in the pulp according to various esthetic restorative materials and bases during curing procedure. *J Kor Acad Cons Dent* 26:393-398, 2001.
- Bae JH, Kim YG, Yoon PY, Cho BH, Choi YH. Pulp response of beagle dog to direct pulp capping materials: Histological study. *J Kor Acad Cons Dent* 35:5-12, 2010.
- About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production *in vitro*. *Exp Cell Res* 258(1):33-41, 2000.
- Chiego DJ, Jr. An ultrastructural and autoradiographic analysis of primary and replacement odontoblasts following cavity preparation and wound healing in the rat molar. *Proc Finn Dent Soc* 88 Suppl 1:243-256, 1992.
- Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S, Six N, Jegat N, Decup F, et al. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res* 58(2):137-147, 2008.
- Harada M, Kenmotsu S, Nakasone N, Nakakura-Ohshima K, Ohshima H. Cell dynamics in the pulpal healing process following cavity preparation in rat molars. *Histochem Cell Biol* 130(4):773-783, 2008.
- Hirata M, Yamaza T, Mei YF, Akamine A. Expression of osteocalcin and Jun D in the early period during reactionary dentin formation after tooth preparation in rat molars. *Cell Tissue Res* 319(3):455-465, 2005.
- Kuratate M, Yoshida K, Shigetani Y, Yoshida N, Ohshima H, Okiji T. Immunohistochemical analysis of nestin, osteopontin, and proliferating cells in the reparative process of exposed dental pulp capped with mineral trioxide aggregate. *J Endod* 34(8):970-974, 2008.
- Ohshima H, Nakakura-Ohshima K, Yamamoto H, Takeyasu. Responses of odontoblasts to cavity preparation in rat molars as demonstrated by immunocytochemistry for heat shock protein (Hsp) 25. *Arch Histol Cytol* 64(5):493-501, 2001.
- Linde A. Dentin mineralization and the role of odontoblasts in calcium transport. *Connect Tissue Res* 33(1-3):163-170, 1995.
- Smith AJ. Dentin formation and repair. *Seltzer and Bender's dental pulp*, p 41-62, 2002.
- Stanley HR, Ranney RR. Age changes in the human dental pulp. I. The quantity of collagen. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 15:1396-1404, 1962.
- Hasegawa T, Suzuki H, Yoshie H, Ohshima H. Influence of extended operation time and of occlusal force on determination of pulpal healing pattern in replanted mouse molars. *Cell Tissue Res* 329(2):259-272, 2007.
- Hosoya A, Nakamura H, Ninomiya T, Hoshi K, Yoshida K, Yoshida N, et al. Hard tissue formation in subcutaneously transplanted rat dental pulp. *J Dent Res* 86(5):469-474, 2007.
- Hosoya A, Yoshida K, Yoshida N, Hoshi K, Iwaku M, Ozawa H. An immunohistochemical study on hard tissue formation in a subcutaneously transplanted rat molar. *Histochem Cell Biol* 119(1):27-35, 2003.
- Nakakura-Ohshima K, Watanabe J, Kenmotsu S, Ohshima H. Possible role of immunocompetent cells and the expression of heat shock protein-25 in the process of pulpal regeneration after tooth injury in rat molars. *J Electron Microscop* (Tokyo) 52(6):581-591, 2003.
- Ogawa R, Saito C, Jung HS, Ohshima H. Capacity of dental pulp differentiation after tooth transplantation. *Cell Tissue Res* 326(3):715-724, 2006.
- Ohshima H, Nakakura-Ohshima K, Yamamoto H, Maeda T. Alteration in the expression of heat shock protein (Hsp) 25-immunoreactivity in the dental pulp of rat molars following tooth replantation. *Arch Histol Cytol* 64(4):425-437, 2001.
- Shimizu A, Nakakura-Ohshima K, Noda T, Maeda T, Ohshima H. Responses of immunocompetent cells in the dental pulp to replantation during the regeneration process in rat molars. *Cell Tissue Res* 302(2):221-233,

- 2000.
20. Takamori Y, Suzuki H, Nakakura-Ohshima K, Cai J, Cho SW, Jung HS, *et al.* Capacity of dental pulp differentiation in mouse molars as demonstrated by allogenic tooth transplantation. *J Histochem Cytochem* 56(12):1075-1086, 2008.
 21. Unno H, Suzuki H, Nakakura-Ohshima K, Jung HS, Ohshima H. Pulpal regeneration following allogenic tooth transplantation into mouse maxilla. *Anat Rec (Hoboken)* 292(4):570-579, 2009.
 22. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. *Endod Dent Traumatol* 11(2):59-68, 1995.
 23. Byers MR, Kvinnsland I, Bothwell M. Analysis of low affinity nerve growth factor receptor during pulpal healing and regeneration of myelinated and unmyelinated axons in replanted teeth. *J Comp Neurol* 326(3):470-484, 1992.
 24. Kvinnsland I, Heyeraas KJ, Byers MR. Regeneration of calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerves in replanted rat molars and their supporting tissues. *Arch Oral Biol* 36(11):815-826, 1991.
 25. Tsukamoto-Tanaka H, Ikegame M, Takagi R, Harada H, Ohshima H. Histochemical and immunocytochemical study of hard tissue formation in dental pulp during the healing process in rat molars after tooth replantation. *Cell Tissue Res* 325(2):219-229, 2006.
 26. Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *J Endod* 34(7 Suppl):S51-56, 2008.
 27. Chueh LH, Huang GT. Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift. *J Endod* 32(12):1205-1213, 2006.
 28. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 30(4):196-200, 2004.
 29. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 17(4):185-187, 2001.
 30. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 34(7):876-887, 2008.
 31. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent* 29(1):47-50, 2007.
 32. Kwon OT, Kum KY, Lee SJ. The effect of periodontal regeneration and anti-resorption of dexamethasone and OP-1 following delayed replantation in rat model. *J Kor Acad Cons Dent* 26:296-306, 2001.
 33. Okiji T. Pulp as a connective tissue. *Seltzer and Bender's dental pulp*, p 95~117, 2002.
 34. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 39(1):273-280, 1995.
 35. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, *et al.* Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 81(8):531-535, 2002.
 36. Batouli S, Miura M, Brahimi J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, *et al.* Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res* 82(12):976-981, 2003.
 37. Kristerson L, Andreasen JO. Influence of root development on periodontal and pulpal healing after replantation of incisors in monkeys. *Int J Oral Surg* 13(4):313-323, 1984.
 38. Egelberg J. Regeneration and repair of periodontal tissues. *J Periodontol Res* 22(3):233-242, 1987.
 39. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GTJ. Histologic Characterization of Regenerated Tissues in Canal Space after the Revitalization/Revascularization Procedure of Immature Dog Teeth with Apical Periodontitis. *J Endod* 36(1):56-63, 2010.
 40. Vojinovic O, Vojinovic J. Periodontal cell migration into the apical pulp during the repair process after pulpectomy in immature teeth: an autoradiographic study. *J Oral Rehabil* 20(6):637-652, 1993.
 41. Nelson-Filho P, Borsatto MC, de Oliveira PT, da Silva RA. Partial replacement of the dentin-pulp complex by periodontal supporting tissues in a traumatically intruded primary maxillary incisor. *Dent Traumatol* 24(5):553-555, 2008.

국문초록

흰 쥐 치아 재식 후 치수 치유 양상의 조직학적 관찰

고은진¹ · 정한성² · 김의성¹ · 정일영¹ · 이승종^{1*}

연세대학교 치과대학 ¹치과보존학교실, ²구강생물학교실

본 연구의 목적은 흰 쥐(rat)를 이용하여 미성숙 단계의 치아를 발치 후 즉시 재식 하였을 때 나타나는 치수의 치유 양상을 조직학적으로 관찰하고자 하는 것이다. 생후 4주된 암컷 Sprague-Dawley 계 흰쥐의 상악 우측 제1대구치를 발거 후 원래의 치조골와 내로 위치시켰다. 재식 후 3일째부터 국소적으로 치수 내 염증 소견이 관찰되었으나, 치근 부위에서는 이미 치수의 재혈관화 및 치유가 진행되고 있는 소견이 관찰되었다. 재식 후 5일째부터는 odontoblast-like cell이 관찰되기 시작하였다. 삼차 상아질의 형성은 재식 후 1주째부터 관찰되기 시작하였으며, 2주째부터는 확실히 관찰할 수 있었다. Odontoblast-like cell 및 삼차상아질 형성은 4주째까지도 계속 관찰되었다. 재식 후 4주째에는 bone-like tissue 및 cementum-like tissue이 형성되었음을 관찰하였다. 본 실험을 통하여 흰 쥐 치아 재식 시 석회화 과정은 초기에는 삼차상아질 침착에 의해서 진행되나, 시간이 경과하면서 점차 bone-like tissue 또는 cementum-like tissue가 차지하는 비율이 증가하는 것을 관찰하였다.

주요단어: 삼차상아질, 골, 치수 치유, 치아 재식, 쥐